

BIOMINERALOGICAL PHENOMENON (CALCIFICATION) OF ARTERIES

Biominerologiczne zjawiska (kalcyfikacji) tętnic.

Maciej Pawlikowski*

*/ AGH- Univ. of Science and Technology, Dept. Mineralogy, Petrography and
Geochemistry, 30-059 Cracow, al. Mickiewicza 30. Poland .

e-mail: mpawlik@agh.edu.pl

Abstract

Biominalization of tissues includes both mineralization processes that are necessary for the functioning of the organism and those that are harmful for it. This article discusses both types of mineralization, with particular focus on the occurrence of the so-called crystallization centers, i.e. places where the mineralization begins. Primary and secondary crystallization centers are distinguished. Characteristics of developing biominalization and its consequences are discussed.

Key words: biominalization, arteries.

Streszczenie

Przedstawiono teorię biominalizacji tętnic człowieka. Omówiono przyczyny powstawania i rodzaje centrów krystalizacji w tętnicach. Zaprezentowano wybrane rodzaje mineralizacji tętnic.

Słowa kluczowe: biominalizacja, tętnice

Introduction

Kalcyfikacja (zwapnienia) tętnic jest zjawiskiem powszechnie znanym i szeroko badanym ze względu na znaczenie dla zdrowia i życia człowieka , Obszerna literatura poruszająca tą tematyka może być podzielona na trzy części.

Najobszerniejsza część publikacji dotyczy opisu zjawiska miażdżycy w różnej jej aspektach (4, 6, 11, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 25, 26, 27, 28, 31, 32, 33, 34, 35, 37, 39, 40, 48, 49, 50, 52, 57, 58, 60, 61). Duża ilość naukowców zajmuje się także poszukiwaniem przyczyn powstawania miażdżycy reprezentowanej często przez tzw. „płytkę miażdżycową” (2, 3, 5, 7, 8, 10, 13, 15, 22, 23, 24, 29, 38, 41, 44, 46, 47, 51, 53, 62). Mniejsza jest natomiast ilość publikacji dotyczących badań nad zapobieganiem powstawania złożeń w naczyniach krwionośnych i ich likwidacją (1, 9, 20, 30, 36, 42, 43, 48, 54, 55, 56, 59).

Istotność miażdżycy dla funkcjonowania całego organizmu jest trudna do przecenienia.

Biomineralizacja jest zjawiskiem mineralizacji (często krystalizacji) na podłożach biologicznych i w środowisku biologicznym. W tym artykule określenie to jest używane w odniesieniu do tętnic. Może jednak obejmować inne tkanki, narządy. Występuje u innych gatunków obejmując żarłowni świat zwierząt jak i roślin. (25-40).

Dlatego też poznanie zjawiska biomineralizacji tętnic, przyczyn tego zjawiska, zwłaszcza rozwiązanie problemu profilaktyki zwapnień tętnic i jej likwidacji (rozpuszczani) w przypadku zaawansowania procesu w wielu wypadkach decyduje o życiu,

Zapobieganie i walka z miażdżycą są mało skuteczne bez szczegółowego poznania zjawiska, które mają charakter mineralogiczno-chemiczny. Prowadzą bowiem do krystalizacji różnych substancji zwanych medycznie blaszką miażdżycową. W związku z powyższym są to zjawiska dotyczące problemów medycznych mające jednak charakter mineralogiczny. Powinny zatem być obiektem strukturalnych badań mineralogicznych.

Biomineralizacja obejmuje zarówno wewnętrzną powierzchnię tętnic jak i jej ścianę. Badania wskazują, że koncentruje się ona niemal wyłącznie w tętnicach a nie w żyłach. Wiąże się to ze składem chemicznym krwi tętniczej, która w przeciwieństwie do krwi żyłnej jest utlenowana, lekko zasadowa i niesie z sobą substancje odżywcze. (Krew żylna ma niższe pH, zawiera CO₂, i produkty metabolizmu co uniemożliwia krystalizację większości substancji mineralizujących naczynia krwionośne (8, 15, 25, 27, 35 i in.).

Biomineralizacja tętnic odbywa się zarówno substancjami nieorganicznymi (fosforany) jak i organicznymi (cholesterol, tłuszcze, itd.).

Może być reprezentowana wyłącznie przez związki nieorganiczne, wyłącznie przez substancje organiczne lub przez jedne i drugie równocześnie.

Do krystalizacji wspomnianych substancji w tętnicach wymagane jest występowanie centrów krystalizacji (40) i substancji krystalizujących czyli tych, które budują „płytkę miażdżycową”. Występowanie tylko jednego z tych czynników jest niewystarczające do biomineralizacji tętnic.

Biorąc powyższe pod uwagę należy wykonać analizę przyczyn koncentracji we krwi składników z których tworzy się płytka miażdżycowa czyli biomineralizacja oraz przyczyn powstawania centrów krystalizacji czyli miejsc w których biomineralizacja tętnic się tworzy.

Wiele jest medycznych opinii o przyczynach podwyższonej zawartości cholesterolu, wapnia, fosforu i in. elementów powodujących „mineralizację” (miażdżyce) tętnice. Poniżej zostaną omówione przyczyny powstawania centrów biomineralizacji czyli miejsc tworzenia się blaszki miażdżycowej.

Biomineralizacja tętnic rozwija się zarówno na ich wewnętrznej powierzchni (intymie) jak i w samej ścianie (31, 34, 35). W tej kolejności zostaną przedstawione przyczyny i sposoby powstawania centrów krystalizacji tętnic czyli ich biomineralizacji.

Jak wykazują badania (2, 8, 13, 18, 22, 53) biomineralizacja tętnic ale także innych narządów rozwija w miejscach uszkodzeń tkanek. Uszkodzenia te to to miejsca zniszczenia struktury atomowej substancji organicznych polegające na zniszczeniu wiązań międzyatomowych w komponentach tkanek. Właśnie w tych zniszczonych miejscach występują pole elektryczne działające jak magnes na przepływające, naładowane elektrycznie cząsteczki. W wyniku tych oddziaływań rozpoczyna się tworzenie lokalnej mineralizacji np. tętnic. Początkowo mineralizacja ta nie manifestuje się w formie złogów, zian czy koncentracji. Jest to mineralizacja ukryta polegająca na wstawianiu we wspomnianych centrach krystalizacji pojedynczych cząsteczek różnych związków.

Biomineralizacja tętnic może zatrzymać się na tym etapie lub rozwijając się nadal przekształcić w biomineralizację widoczną np. jako tzw. blaszka miażdżycowa.

Istotnym elementem dyskusji o powstawaniu centrów krystalizacji są szczegóły dotyczące przyczyn ich powstawania.

Przyczyny tworzenia się centrów biomineralizacji, w tym powstawania zwapnień można podzielić ogólnie na: pierwotne - genetyczne i wtórne

Centra genetyczne to te defekty struktur biologicznych, które przekazywane są z pokolenia na pokolenie. Ich obecność w określonych miejscach prowadzi do powstawania biomineralizacji w tym samym miejscu np. w określonym miejscu tętnicy wieńcowej serca.

Centra wtórne powstają w organizmie w ciągu życia. Mogą powstawać z różnych przyczyn w tym w wyniku mechanicznego lub chemicznego oddziaływania różnych substancji na tkanki - również na tętnice.

Czynnik mechaniczne niszczące tkanki w tym tętnice związane są z ich pracą zarówno naturalną jak i wymuszoną (np. sport). Długotrwała praca zwłaszcza związana z długim wysiłkiem fizycznym prowadzi do niszczenia struktur biologicznych budujących tkanki. W miejscach zniszczeń powstają centra krystalizacji (biomineralizacji).

Czynnikami niszczącymi mechanicznie nasze tkanki mogą być substancje stałe wnikające do naszego organizmu z powietrzem, pokarmami i płynami. Są to zarówno cząsteczki mineralne (kwarc, węgiel, azbest, itd.) jak i różnego rodzaju produkty pochodzenia przemysłowego (żużelki, szkliwo, itd.) Cząstki te mechanicznie niszczą tkanki tworząc centra krystalizacji w miejscach zniszczeń.

Czynniki chemiczne to wiele różnego rodzaju substancji wnikających do naszego organizmu lecz także substancje wytwarzane przez nasz organizm.

Jednym z **czynników zewnętrznych** niszczących tkanki są toksyny wytwarzane przez infekujące nas mikroorganizmy (bakterie, wirusy i in.), Toksyny te to często groźne, agresywne toksyny (związki organiczne), które powodują niszczenie struktur biologicznych. Te zniszczone miejsca stają się centrami krystalizacji.

Wspomniane toksyny niszczą płuca, tętnice, i in. narządy, a wielkość zniszczeń, a tym samym rozległości tworzących się centrów krystalizacji jest proporcjonalna do czasu oddziaływani toksyn czyli czasu i intensywności infekcji. Im dłuższa, groźniejsza infekcja tym większa szansa na powstanie zwapnień (np. w płucach). Stąd szybka likwidacja infekcji (np. antybiotykami) wydaje się konieczna.

Inne **zewnętrzne czynniki** niszczące tkanki to substancje chemiczne zawarte w napojach, a także jak - wykazały badania - niektóre konserwanty. Działając chemicznie na tkanki niszczą je prowadząc do powstawania centrów biomineralizacji.

Każdy z wymienionych czynników może wpływać na niszczenie struktur biologicznych tkanek i powstawanie centrów biomineralizacji. Czynniki te mogą współwystępować ze sobą w różnych konfiguracjach zwiększając wielokrotnie możliwość powstawania centrów krystalizacji, zwapnień i m.in. na przykład miażdżycy. Inaczej mówiąc osoba z defektami genetycznymi struktur biologicznych, poddająca się nadmiernemu wysiłkowi fizycznemu, stosująca używki i żyjąca w skażonym środowisku ma znacznie większe szanse na biomineralizację niż osoba która nie spełnia wspomnianych warunków.

A. Biomineralization on intima of arteries

Jednym z miejsc biomineralizacji tętnic może być ich wewnętrzna ściana, czyli powierzchnia intymy. Błona komórkowa komórek intymy zbudowana jest z

fosfolipidów o strukturze polarnej (Fig. 1.1), tzn. fosfolipidy posiadają ładunki elektryczne na końcach cząsteczek. Proces mineralizacji opisano pod fig. 1.

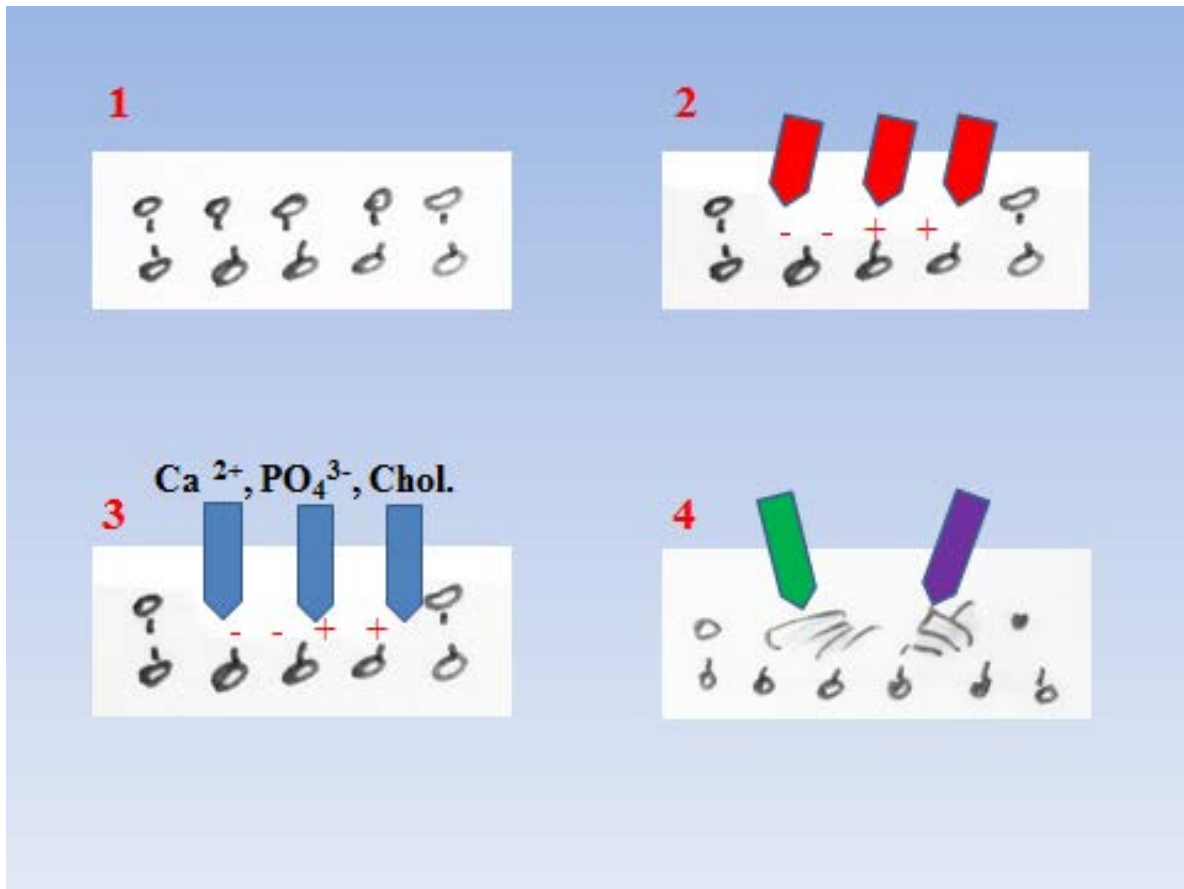


Fig. 1 1- schemat układu fosfolipidów w błonie komórkowej intymy. 2 – schemat niszczenia błony komórkowej przez substancje chemiczne (toksyny związane z infekcją, związki chemiczne wnikaające do organizmu z zewnątrz it.). Efektem zniszczenia są zerwane wiązania międzycząsteczkowe i pojawienie się ładunków elektrycznych czyli powstanie centrum biomineralizacji. 3 - przyłączeni w centrum krystalizacji cząsteczek obdarzonych ładunkami elektrycznymi. Powstawanie pierwszej fazy biomineralizacji- mineralizacji ukrytej. 4 - dalsza ewolucja mineralizacji w centrum krystalizacji prowadząca do powstawania mineralizacji widocznej (kryształy, agregaty, kryształów, konkrety, płytka miażdżycowa. itd.). Krystalizują substancje nieorganiczne (fosforany strzałka zielona) i/lub substancje organiczne np. cholesterol (strzałka fioletowa).

Rzeczywiście rozwój procesu niszczenia intymy jest często w pierwszej fazie niezauważalny w badaniach histologicznych (Fot. 1 A). Dopiero duże powiększenia ujawniają zniszczenia intymy.

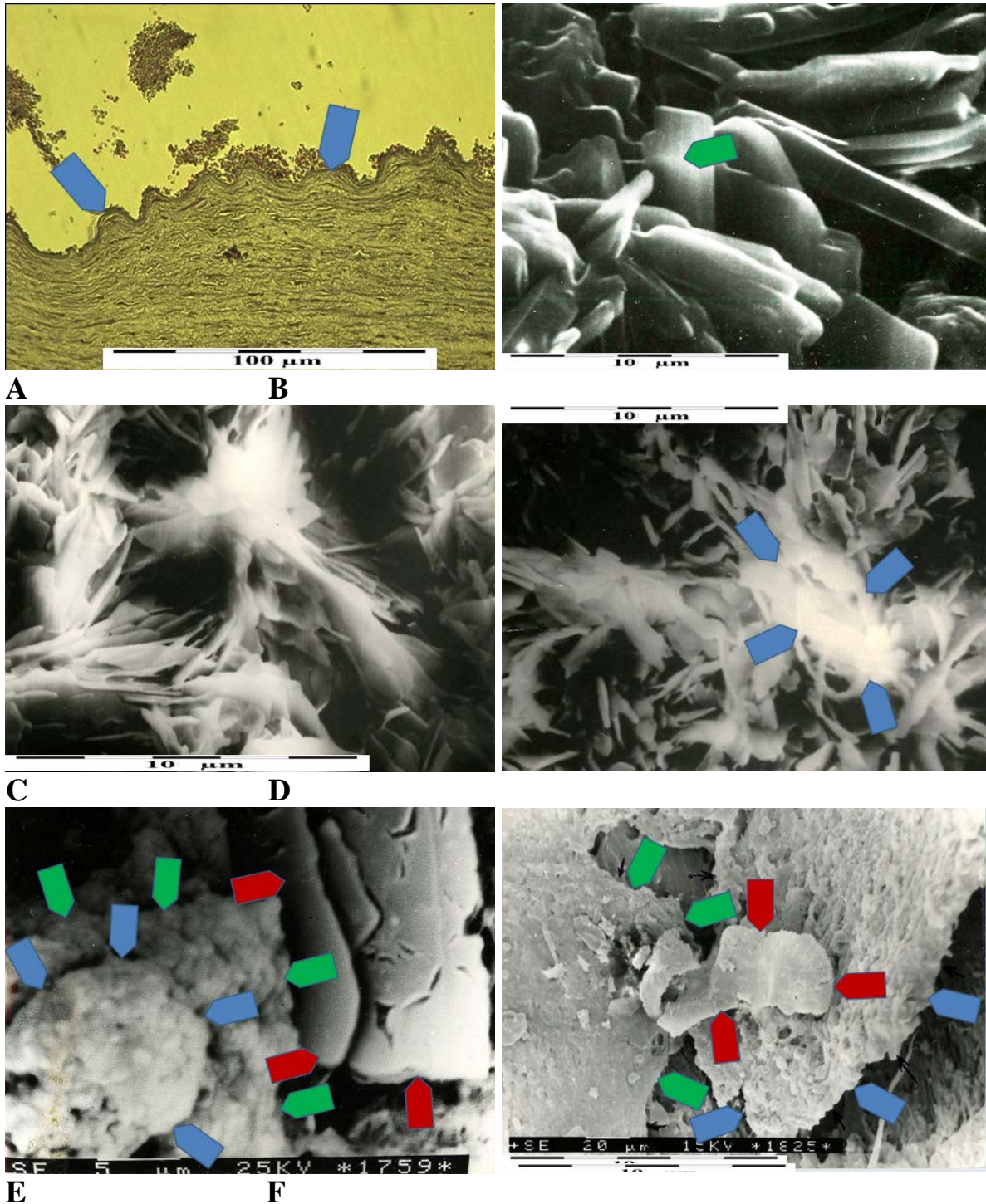


Photo. 1 **A** – Przekrój tętnicy z widoczną intymą. Strzałki zaznaczają miejsca deformacji i uszkodzeń intymy. Preparat histologiczny. **B** – mineralizacja nieorganiczna. Kryształy fosforanów krystalizujące na powierzchni intymy. Strzałka pokazuje miejsce wykonania analizy chemicznej metoda EDS. Mikroskop skaningowy. **C** – mineralizacja organiczna. Agregaty kryształów cholesterol wykrystalizowane na powierzchni intymy. Mikroskop skaningowy. **D** - mineralizacja mieszana organiczno-nieorganiczna. Agregaty kryształów cholesterolu pokryte miejscami fosforanami (strzałka). Mikroskop skaningowy.

E- mineralizacja wieloetapowa (fragment blaszki miażdżycowej). Strzałki czerwone – kryształy cholesterolu. Strzałki zielone – starsza „warstwa” mineralizacji fosforanowej. Strzałki niebieskie – Młodsza „warstwa” mineralizacji fosforanowej (agregat fosforanowy. Mikroskop skaningowy.

F – mineralizacja wieloetapowa (fragment blaszki miażdżycowej). Widoczne kolejne warstwy mineralizacji cholesterolowej. Mineralizacja **najstarsza** (strzałki zielone), **młodsza** (strzałki niebieskie), **najmłodsza** (strzałki czerwone). Mikroskop skaningowy.

B. Biomineralization at the wall of arteries

W ścianach tętnic obserwuje się głównie koncentracje cholesterolowe niekiedy „przerośnięte” z fosforanami. Ziarna nieorganiczne, fosforanowe są rzadsze. Prowadzone badania wskazują, że biomineralizacja ściany tętnic chętnie rozwija się w miejscach deformacji i uszkodzeń mięśniówki. Może to być związane z intensywną aktywnością fizyczną (praca, sport. Itd.). Może ona prowadzić do mechanicznego uszkodzania włókien mięśni. Nie można także wykluczyć, że jest efektem starzenia się mięśni i ich długotrwałego funkcjonowania. Wyjaśnienie tego zjawiska wymaga dalszych badań. Bez względu na przyczyny zniszczenia włókien mięśniówki przejawia się w strukturach biologicznych zrywaniem wiązań międzyatomowych. To skutkuje pojawieniem się wolnych wiązań i ładunków elektrycznych w miejscach uszkodzeń, czyli powstawaniem centrów biomineralizacji (Fig. 2, 1,2). Konsekwencją tego zjawiska jest wiązanie przez centrum krystalizacji naładowanych elektrycznie cząstek znajdujących się w najbliższym otoczeniu centrum krystalizacji (Fig. 2, 3). Gdy wiązane cząsteczki wysycą elektrycznie centrum krystalizacji to znaczy w miejscu krystalizacji nie ma wolnych wiązań i ładunków elektrycznych biomineralizacja zostaje zatrzymana i pozostaje w ścianie tętnicy jako mineralizacja ukryta, rozpoznawalna jedynie czułymi metodami chemicznymi. Gdy nadal się rozwija tworzy różnego rodzaju koncentracje i ziarna (Fig. 2, 4).

Przedstawiony powyżej schemat ukazujący kolejność zjawisk jest efektem badań tętnic z różnych części organizmu jak też tętnic o różnym wieku.

Koncentracje cholesterolowe znajdujące się w różnych fazach rozwoju są łatwe do obserwacji w wybarwianych preparatach histologicznych, bowiem cholesterol źle się wybarwia i jest łatwo rozpoznawalny w wybarwionych elementach tętnic (Fot. 2 A, B).

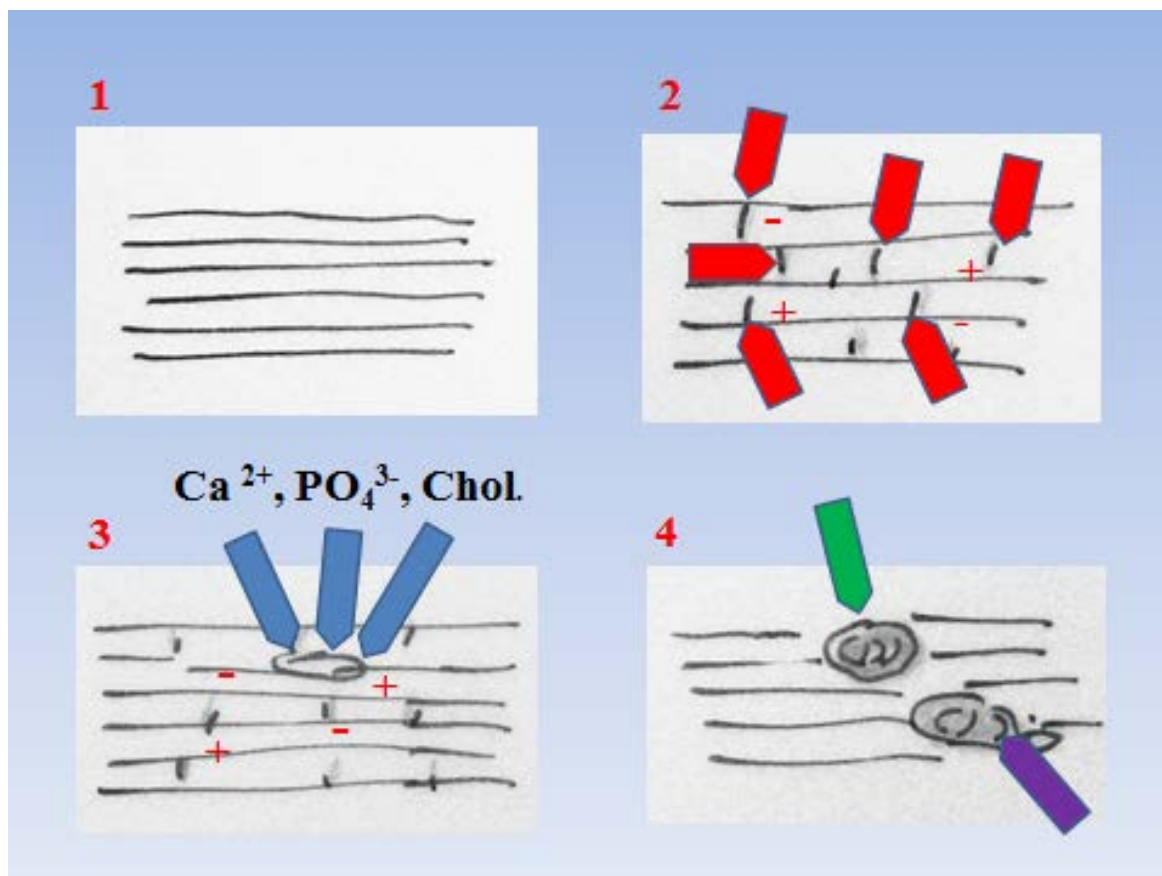


Fig. 2 Schemat rozwoju biomineralizacji ściany tętnicy (mięśniówki). **1** – włókna mięśni bez centrów krystalizacji. **2** – miejsca zniszczeń mięśniówki obdarzone ładunkami elektrycznymi (centra krystalizacji). **3** – wczesne stadium biomineralizacji ściany tętnicy (biomineralizacja ukryta). Przyłączanie jonów do centrum krystalizacji. **4** – późne stadium biomineralizacji ściany tętnicy (biomineralizacja jawna). Powstawanie w ścianie tętnicy agregatów organicznych, nieorganicznych i mieszanych.

Stwierdzono, że w niektórych koncentracjach cholesterolu i ich centralnej części, a więc wczesnej fazie krystalizacji znajdują się podwyższone ilości wapnia (Fot. 2, B). Z kolei cholesterol drobnoziarnisty może ulegać rekrystalizacji do czystych, łódeczkowatych w kształcie kryształków. Tworzy on wówczas łatwo rozpoznawalne histologicznie bezbarwne koncentracje (Fot. 2, C).

Niekiedy napotyka się w ścianie tętnic wyjątkowo twarde ziarna fosforanowe (Fot. 2, D). Ich czyste wyseparowanie z mięśniówki nie jest łatwe. W szczegółowych badaniach ujawniają one niejednorodną budowę i zmienny skład chemiczny (Fot. 2, E). Dominuje w nich zwłaszcza w starszych i większych ziarnach hydroxyapatyt o cechach krystalograficznych bardzo zbliżonych do apatytu kostnego.

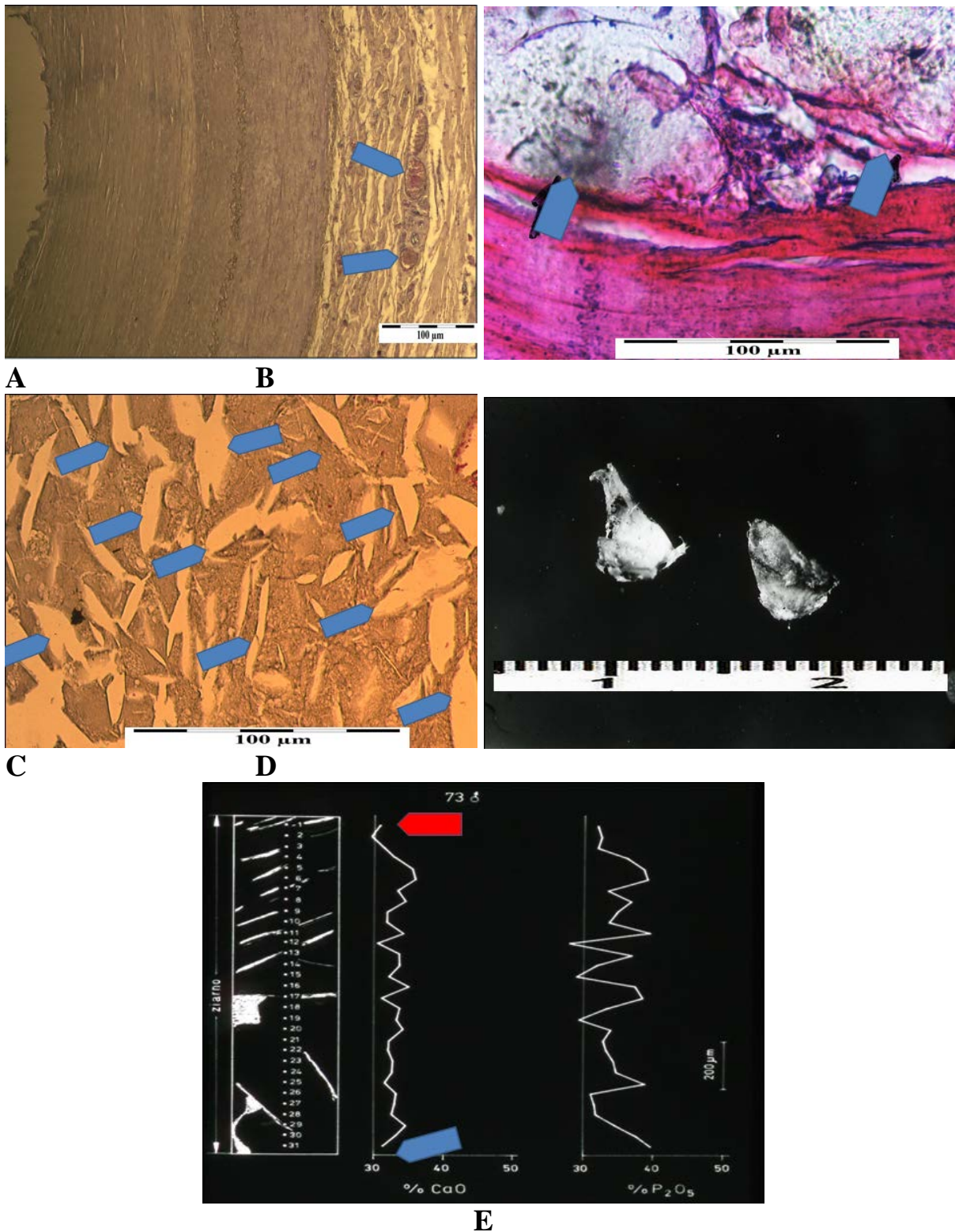


Photo. 2 Późna (widoczna) biomineralizacja ściany tętnic. A – etap tworzenia się soczewki cholesterolowo- fosforanowej w ścianie tętnicy (strzałki). B – duże jasne koncentracje cholesterolu w rozwarstwionej mięśniówce tętnicy. C – liczne, jasne kryształy cholesterolu (strzałki) tkwiące w drobnoziarnistej

masie cholesterolowej wyjęte ze ścianki tętnicy. D – ziarna fosforanowe (hydroxyapatyt) wypreparowane z e ścian ki tętnicy. E - wykresy analiz chemicznych wykonanych metodą mikrosondy elektronowej jednego z ziarn pokazanych na fot 2, D. Lewa strona fig. Schemat przekroju ziarna z zaznaczonymi, ponumerowanymi punktami wykonania analiz chemicznych. Prawa część fig. Wykresy zmienności CaO i PO_4^{3-} od początku powstawania ziarna (strzałka niebieska) do zakończenia jego krystalizacji (strzałka czerwona).

Powszechne są przypadki, że biomineralizacja rozwija się równocześnie na intymie i w ścianie tętnicy. Wówczas ma miejsce znaczne zwężenie czynnego przekroju tętnicy co skutkuje wzrostem ciśnienia krwi.

Podsumowanie

Prezentowane badania pozwalają lepiej zrozumieć mechanizmy biomineralizacji tętnic stając się podstawą między innymi profilaktyki miażdżycy. Zrozumienie wspomnianych procesów stanowi bazę do podjęcia badań eksperymentalnych nad rozpuszczaniem biomineralizacji tętnic (Pawlikowski). Oczyszczenie tętnic i przywrócenie normalnego funkcjonowania układu krwionośnego jest trudne do przecenienia z punktu widzenia zdrowia człowieka.

Niejednorodność składu mineralnego i chemicznego omawianych form biomineralizacji tętnic dowodzi oscylacji zjawisk w trakcie ich powstawania.

Znajdujące się w tych koncentracjach raz większe raz mniejsze zawartości wapnia i fosforu jak też zmienne ilości cholesterolu wskazują, że biomineralizacja tętnic ma charakter dynamiczny. Jest ro odzwierciedleniem określonych „stanów” chemicznych” organizmu rzutujących na chemizm krwi. Choć nasza wiedza w tym zakresie szybko się poszerza jest ciągle niepełna i obligująca do dalszych intensywnych badań.

Bibliography

1. Abedin M., Lim J., Tang T.B., Park D., Demer L.L., Tintut Y.. 2006 N-3 fatty acids inhibit vascular calcification via the p38-mitogen-activated protein kinase and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma pathways. *Circ. Res.*, 98: 727–729.
2. Allison M.A., Criqui M.H., Wright C.M., 2004 Patterns and risk factors for systemic calcified atherosclerosis. *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.*, 24: 331–336.

3. Arad Y, Goodman KJ, Roth M, Newstein D, Guerci AD 2005 Coronary calcification, coronary disease risk factors, C-reactive protein, and atherosclerotic cardiovascular disease events: the St. Francis Heart Study. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 46(1):158-65.
4. Bas A., Lopez I., Perez J., Rodriguez M., Aguilera-Tejero E., 2006 Reversibility of calcitriol-induced medial artery calcification in rats with intact renal function. *J. Bone. Miner. Res.*, 21: 484–490.
5. Bostrom K., Watson K.E., Horn S., Wortham C., Herman I.M., Demer L.L, 1993; Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. *J. Clin. Invest.*, 91: 1800–1809.
6. Callaway M.P., Richards P., Goddard P., Rees M., 1997 The incidence of coronary artery calcification on standard thoracic CT scans. *Br. J. Radiol.*, 834 :572-574.
7. Campbell G.R., Campbell J.H., 2000 Vascular smooth muscle and arterial calcification. *Z. Kardiol.*, 89 (suppl 2): 54–62.
8. Canfield A.E., Sutton A.B., Hoyland J.A., Schor A.M., 1996 Association of thrombospondin-1 with osteogenic differentiation of retinal pericytes in vitro. *J. Cell Sci.*, 109 (pt 2): 343–353.
9. Cowell S.J., Newby D.E., Prescott R.J., Bloomfield P., Reid J., Northridge D.B., Boon N.A., 2005; A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis. *N. Engl. J. Med.*, 352: 2389–2397.
10. El-Abbadi M., Giachelli C.M., 2007 Mechanisms of vascular calcification. *Adv. Chronic. Kidney Dis.*, 14 :54–66.
11. Huang H., Virmani R., Younis H., Burke A.P., Kamm R.D., Lee R.T., 2001 The impact of calcification on the biomechanical stability of atherosclerotic plaques. *Circulation.*, 103: 1051–1056.
12. Iribarren C., Sidney S., Sternfeld B., Browner W.S., 2000 Calcification of the aortic arch: risk factors and association with coronary heart disease, stroke, and peripheral vascular disease. *JAMA.*, 283(21):2810-5
13. Jono S., McKee M.D., Murry C.E., Shioi A., Nishizawa Y., Mori K., Morii H., Giachelli C.M., 2000 Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ. Res.*, 87: E10–E17.
14. Keelan P.C., Bielak L.F., Ashai K., Jamjoum L.S., Denktas A.E., Rumberger J.A., Sheedy I.P., Peyser P.A., Schwartz R.S., 2001 Long-term prognostic value of coronary calcification detected by electron-beam computed tomography in patients undergoing coronary angiography. *Circulation.*, 104: 412–417.
15. Lomashvili K.A., Cobbs S., Hennigar R.A., Hardcastle K.I., O'Neill W.C., 2004 Phosphate-induced vascular calcification: role of pyrophosphate and osteopontin. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 15: 1392–1401.

16. Luo G., Ducey P., McKee M.D., Pinero G.J., Loyer E., Behringer R.R., Karsenty G., 1997 Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature.*, 386: 78–81.
17. Matsushita M., Nishikimi N., Sakurai T., Nimura Y., 2000 Relationship between aortic calcification and atherosclerotic disease in patients with abdominal aortic aneurysm. *Int Angiol.*, 3:276-9.
18. Nadra I., Mason J.C., Philippidis P., Florey O., Smythe C.D., McCarthy G.M., Landis R.C., Haskard D.O., 2005 Proinflammatory activation of macrophages by basic calcium phosphate crystals via protein kinase C and MAP kinase pathways: a vicious cycle of inflammation and arterial calcification? *Circ. Res.*, 96:1248–1256.
19. Neves K.R., Graciolli F.G., dos Reis L.M., Graciolli R.G., Neves C.L., Magalhaes AO, Custodio. MR, Batista DG, Jorgetti V, Moyses RM. 2007 Vascular calcification: contribution of parathyroid hormone in renal failure. *Kidney Int.*, 71: 1262–1270.
20. Nicholls S.J., Tuzcu E.M., Wolski K., Sipahi I., Schoenhagen P., Crowe T., Kapadia S.R., Hazen S.L., Nissen S.E., 2007 Coronary artery calcification and changes in atheroma burden in response to established medical therapies. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 49: 263–270.
21. Niskanen L., Siitonen O., Suhonen M., Uusitupa M.I., 1994 Medial artery calcification predicts cardiovascular mortality in patients with NIDDM. *Diabetes Care.*, 11:1252
22. Orita Y., Yamamoto H., Kohno N., Sugihara M., Honda H., Kawamata S., Mito S., Soe N.N., 2007 Yoshizumi M. Role of osteoprotegerin in arterial calcification: development of new animal model. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 27: 2058–2064.
23. Parhami F., Morrow A.D., Balucan J., Leitinger N., Watson A.D., Tintut Y., Berliner J.A., Demer L.L., 1997 Lipid oxidation products have opposite effects on calcifying vascular cell and bone cell differentiation: a possible explanation for the paradox of arterial calcification in osteoporotic patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 17: 680–687.
24. Parhami F., Basseri B., Hwang J., Tintut Y., Demer L.L., 2002 High-density lipoprotein regulates calcification of vascular cells. *Circ. Res.*, 91: 570–576.
25. Pawlikowski M., 1987 Mineralizacja organizmu człowieka żyjącego, (Mineralization of human living organism). *Prace Mineral.*, 79:121.
26. Pawlikowski M., Ryskala Z., 1991 Charakterystyka mineralogiczno-chemicznafosforanowej mineralizacji wybranych naczyń tętniczych człowieka. (Mineralogical-chemical characteristic of phosphate mineralization of human arteries). *Roczniki Nauk Dyd, WSP w Krakowie Prace Fizjologiczne.* : 81–104.
27. Pawlikowski M., 1991 Mineralizacja nowotworowa (Mineralization of cancer). In: *Biom mineralizacja i biomateriały.* PWN, Warszawa., : 84–92.

28. Pawlikowski M. 1993 Krysztaly w organizmie człowieka, (Crystals of humanorganism). Secesja. : 132 .
29. Pawlikowski M., 1995 Sekrety mineralizacji tkanek (Secrets of tissue mineralization). PAN Kraków., : 97.
30. Pawlikowski M., 1999 Preliminary results of dissolution of substances mineralizing human arteries. Arch Mineralog., 52 :195.
31. Pawlikowski M., Pfitzner R, 1995 Zastosowanie metod mineralogicznychw badaniach tkanek człowieka. I. Sposoby badania mineralizacji. (Mineralogical methods useful for examination of human tissues). Przegl. Lekarski.;52:119–123.
32. Pawlikowski M., Pfitzner R. 1995 Zastosowanie metod mineralogicznych w badaniach tkanek człowieka. II. Mineralizacja struktur serca. (Mineralogical methods useful for examination of human tissues. Mineralization of heart structures). Przegl. Lekarski., :52:24–27.
33. Pawlikowski M., Pfitzner K., Skinner C., 1995. Cholesterol-mineral concentrations of the aneurysmatic wall. Acta Angiologica., :. 1–15.
34. Pawlikowski M., Pfitzner R., 1999 Mineralizacja serca i dużych naczyń, (Mineralization of heart and big blood vessels). Wyd IGSMiE PAN Kraków, :142
35. Pawlikowski M., 2003 Minerals in human blood vessels and their dissolution in vitro. In: Skinner HCW, Berger AW, editors. Geology and health. Oxford University Press., :155–158.
36. Pawlikowski M. 2011 Biomineralization of cancer tissues. 20th Int. Symp. Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism. Cracow, H Lach editors. Wyd Abaton Kraków.. :190–191.
37. Pawlikowski M., 2014 Osteoporosis as a source of tissue mineralization. Research on osteoporosis therapy and dissolution of arterial mineralization. Jour. Life Science.;8:610–625.
38. Pawlikowski M. 2017 Biomineralogy of angiogenesis. Arch. Clin. Biomed. Res., 1 :161–167.
39. Pawlikowski M., 2017a Centers of Human Tissue Biomineralization (Calcification). Cardiol. Cardiovasc. Med., 1 :252–262.
40. Price P.A., Faus S.A., Williamson M.K.. 2000; Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 20 :317–327.
41. Price P.A., June H.H., Buckley J.R., Williamson M.K., 2001. Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 21: 1610–1616.
42. Price P.A., Faus S.A., Williamson M.K., 2001 Bisphosphonates alendronate and ibandronate inhibit artery calcificationnn at doses comparable to those that inhibit bone resorption. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 21: 817–824.

43. Proudfoot D., Skepper J.N., Shanahan C.M., Weissberg P.L., 1998 Calcification of human vascular cells in vitro is correlated with high levels of matrix Gla protein and low levels of osteopontin expression. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 18: 379–388.
44. Qiao J.H., Xie P.Z., Fishbein M.C., Kreuzer J., Drake T.A., Demer L.L., Lusis A.J., 1994 Pathology of atheromatous lesions in inbred and genetically engineered mice: genetic determination of arterial calcification. *Arterioscler. Thromb.*, 14 : 1480–1497.
45. Qiao J.H., Fishbein M.C., Demer L.L., Lusis A.J., 1995 Genetic determination of cartilaginous metaplasia in mouse aorta. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 15: 2265–2272.
46. Qiao J.H., Mertens R.B., Fishbein M.C., Geller S.A., 2003 Cartilaginous metaplasia in calcified diabetic peripheral vascular disease: morphologic evidence of enchondral ossification. *Hum. Pathol.*, 34: 402–407.
47. Rajamannan N.M., Subramaniam M., Stock S.R., Stone N.J., Springett M., Ignatiev K.I., McConnell J.P., Singh R.J., Bonow R.O., Spelsberg T.C., 2005 Atorvastatin inhibits calcification and enhances nitric oxide synthase production in the hypercholesterolaemic aortic valve. *Heart.*, 91: 806–810.
48. Reaven P.D., Sacks J., 2005. Coronary artery and abdominal aortic calcification are associated with cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetologia.*, 48: 379–385.
49. Rennenberg R.J., Schurgers L., Stehouwer C.,D.,A., 2010 Arterial calcifications. *J. Cell. Mol. Med.*, 14: 2203–2210.
50. Reynolds J.L., Joannides A.J., Skepper J.N., McNair R., Schurgers L.J., Proudfoot D., Jahnen-Dechent W., Weissberg P.L., Shanahan C.M., 2004; Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 15: 2857–2867.
51. Sangiorgi G., Rumberger J.A., Severson A., Edwards W.D., Gregoire J., Fitzpatrick L.A., Schwartz R.S., 1998 Arterial calcification and not lumen stenosis is highly correlated with atherosclerotic plaque burden in humans: a histologic study of 723 coronary artery segments using nondecalcifying methodology. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 31: 126–133.
52. Shanahan C.M., Proudfoot D., Farzaneh-Far A., Weissberg P.L., 1998 The role of Gla proteins in vascular calcification. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene. Expr.*, 8: 357–375.
53. Shao J.S, Cheng S.L., Charlton-Kachigian N., Loewy A.P., Towler D.A., 2003 Teriparatide (human parathyroid hormone (1–34)) inhibits osteogenic vascular calcification in diabetic low density lipoprotein receptor-deficient mice. *J. Biol. Chem.*, 278: 50195–50202.

54. Steitz S.A., Speer M.Y., McKee M.D., Liaw L., Almeida M., Yang H., Giachelli C.M., 2002; Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification. *Am. J. Pathol.*, 161: 2035–2046.
55. Schmermund A., Achenbach S., Budde T., Buziashvili Y., Forster A., Friedrich G., Henein M., Kerkhoff G., Knollmann F., Kukharchuk V., Lahiri A., Leischik R., Moshage W., Scharl M., Siffert W., Steinhagen-Thiessen E., Sinitsyn V., Vogt A., Wiedeking B., Erbel R., 2006 Effect of intensive versus standard lipid-lowering treatment with atorvastatin on the progression of calcified coronary atherosclerosis over 12 months: a multicenter, randomized, double-blind trial. *Circulation.*, 113: 427–437.
56. Tanimura A., McGregor D.H., Anderson H.C., 1983 Matrix vesicles in atherosclerotic calcification. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 172: 173–177.
57. Tse J., Martin-McNulty B., Halks-Miller M., Kauser K., DelVecchio V., Vergona R., Sullivan M.E., Rubanyi G.M., 1999 Accelerated atherosclerosis and premature calcified cartilaginous metaplasia in the aorta of diabetic male Apo E knockout mice can be prevented by chronic treatment with 17 beta-estradiol. *Atherosclerosis.*, 144: 303–313.
58. Wada T., McKee M.D., Steitz S., Giachelli C.M., 1999 Calcification of vascular smooth muscle cell cultures: inhibition by osteopontin. *Circ. Res.*, 84: 166–178.
59. Wang L., Jerosch-Herold M., Jacobs D.R. Jr, Shahar E., Detrano R., Folsom A.R., 2006 Coronary artery calcification and myocardial perfusion in asymptomatic adults: the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J. Am. Coll. Cardiol.*, 48: 1018–1026.
60. Weiss R.M., Ohashi M., Miller J.D., Young S.G., Heistad D.D., 2006 Calcific aortic valve stenosis in old hypercholesterolemic mice. *Circulation.*, 114: 2065–2069.
61. Vliedenthart R., Oudkerk M., Hofman A., Oei H.H., van Dijck W., van Rooij F.J., Witteman J.C., 2005 Coronary calcification improves cardiovascular risk prediction in the elderly. *Circulation.*, 112: 572–577.